

毛冬青对慢性心力衰竭大鼠模型炎症相关因子的影响

郑惠萍¹, 张双伟², 陈洁¹, 李小兵¹, 杨忠奇¹, 冼绍祥¹ (1. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 2. 广东省第二中医院, 广东 广州 510095)

摘要: **目的** 观察毛冬青对 SD 大鼠慢性心力衰竭 (CHF) 炎症相关因子及心功能的影响。**方法** 将 60 只雄性 SD 大鼠随机分为模型组和假手术组, 模型组 50 只, 假手术组 10 只。结扎腹主动脉建立 CHF 模型, 将模型复制成功的大鼠随机分为 4 组: 毛冬青低剂量组, 毛冬青高剂量组, 卡托普利组和模型组。分别给予毛冬青、卡托普利或生理盐水灌胃, 2 周后行经胸超声心动图检测, 测定血清白介素-1 β (IL-1 β) 和核因子 κ B (NF- κ B)。**结果** 毛冬青高、低剂量组 CHF 大鼠血清 IL-1 β 、NF- κ B 水平明显低于模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。心脏彩超显示: 毛冬青高、低剂量组大鼠提高射血分数 (EF) 和短轴缩短率 (FS) 与模型组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 毛冬青可以改善慢性心力衰竭的炎症状态和心功能。

关键词: 慢性心力衰竭; 炎症状态; 毛冬青

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)02-0183-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.02.017

Effect of Radix Ilicis Pubescentis on Chronic Heart Failure Rats at Inflammatory State

ZHENG Huiping¹, ZHANG Shuangwei², CHEN Jie¹, LI Xiaobing¹, YANG Zhongqi¹, XIAN Shaoxiang¹ (1. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. Guangdong Second Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of Radix Ilicis Pubescentis (RIP) on the inflammation state and heart function in chronic heart failure (CHF) rats. **Methods** Sixty male SD rats were randomly divided into operation group and sham operation group, operation group had 50 rats, and sham operation group had 10 rats. CHF rat model was established by ligation of abdominal aorta. Rats were randomly divided into 4 groups, low-dose RIP group, high-dose RIP group, captopril group and blank control group, and were given RIP, captopril and normal saline intragastrically. After treatment for 2 weeks, transthoracic ultrasound cardiography was performed, and serum interleukin 1 β (IL-1 β) and nuclear factor κ B (NF- κ B) were detected by using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Serum levels of IL-1 β and NF- κ B were decreased, and ejection fraction (EF) and shortening fraction (FS) were increased in RIP groups ($P < 0.05$, compared with those in the blank control groups). **Conclusion** Radix Ilicis Pubescentis can improve heart function and the inflammatory state of chronic heart failure rats.

Keywords: Chronic heart failure; Inflammatory state; Radix Ilicis Pubescentis

慢性心力衰竭 (chronic heart failure, CHF) 是临床常见的综合征, 其发病率高, 死亡率亦高。研究发现, CHF 是一个炎症反应的过程, 而抗炎治疗成为

治疗 CHF 的重要途径之一^[1-2]。毛冬青具有清热解毒、活血通脉之功效, 可通过其清热解毒的作用改善 CHF 慢性炎症的状态, 从而改善 CHF 的临床症状和

收稿日期: 2013-08-15

作者简介: 郑惠萍, 女, 主管护理师, 研究方向: 中医药防治心血管疾病。Email: zheng-h-p@126.com。

基金项目: 广东省中医局建设中医药强省科研课题 (2010394)。

预后^[3]。本研究探讨毛冬青对慢性心力衰竭大鼠炎症相关因子的影响,以进一步阐述其作用机理。

1 材料与方法

1.1 动物 健康 SD 大鼠 60 只,雄性,SPF 级,体重(250±20) g,由广州中医药大学动物实验中心提供,动物合格证号:0043395。饲养在广州中医药大学实验动物中心,SPF 级鼠料由广州中医药大学动物实验中心提供。

1.2 试剂及药品 大鼠血清白介素-1 β (IL-1 β)酶联免疫法(ELISA)试剂盒和大鼠血清核因子- κ B(NF- κ B)ELISA 试剂盒,广州唯民生物技术有限公司,批号分别为:B1352 和 H3012;卡托普利片,中美上海施贵宝制药有限公司,批号:1103032H;毛冬青饮片,购自康美药业股份有限公司,产地:广东,批号:110908191。制备毛冬青水提液,浓度为 2 kg·mL⁻¹。

1.3 仪器 TD5B 型离心机,长沙湘智离心机仪器有限公司;IE33 型彩色多普勒超声诊断及频率 3~8 MHz 小儿心脏探头,美国 PHILIPS 公司。

1.4 分组、模型复制^[4]及给药 将 60 只 SD 大鼠随机分为模型组(50 只),假手术组(10 只)。适应性喂养 4 d 后复制模型。术前禁食 8 h,称定质量后采用 10 %水合氯醛 3 mL·kg⁻¹ 腹腔注射麻醉,仰卧位固定。假手术组打开腹腔后注入青霉素 10 万 U,直接缝合。模型组正中切开腹壁,钝性分离暴露腹主动脉,在右肾动脉分支近端,以直径为 0.7 mm 的钢丝与腹主动脉一起结扎然后抽出钢丝,形成腹主动脉狭窄,注入青霉素 10 万 U 后缝合腹腔。术后连续 3 d 予以青霉素 10 万 U 腹腔注射。模型复制成功后将大鼠随机分为 4 组:毛冬青高剂量组,毛冬青低剂量组,卡托普利组和模型组。毛冬青低、高剂量组灌胃给予毛冬青药液 10, 20 g·kg⁻¹·d⁻¹,卡托普利组灌服卡托普利悬浊液 0.1 g·kg⁻¹·d⁻¹,模型组及假手术组给予等量的生理盐水,连续 2 周。

1.5 观察指标检测 将各组大鼠予以 10 %水合氯醛 3 mL·kg⁻¹ 腹腔注射麻醉,左胸口予以脱毛,采用 PHILIPS IE33 彩色多普勒超声诊断仪,小儿心脏探头(频率 3~8 MHz),在左室长轴切面,取样线置于腱索水平(IIa 区)获得 M 型超声心动图,应用心脏功能测定软件包计算射血分数(EF)、短轴缩短率(FS)。所有资料均存储图像后分析,计数资料连续测量 3 个心动周期取平均值。之后腹主动脉采血 5 mL,采血

后处死大鼠。将动脉血离心取血清,放入-30 ℃冰箱保存,所有血清采集完成后用 ELISA 大鼠血清试剂盒测定 IL-1 β 和 NF- κ B。

1.6 统计学处理方法 采用 SPSS 11.0 软件,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析。多组间计量资料均数比较时先进行方差齐性的 Levene 检验,方差齐时,采用 LSD 法;方差不齐时,采用 Tamhane'T2 法。

2 结果

2.1 一般情况 SD 大鼠共 60 只,在手术过程中死亡 15 只,假手术组存活 9 只,模型复制大鼠存活 36 只。术后给予积极抗感染治疗,至实验结束,毛冬青高剂量组死亡 2 只,毛冬青低剂量组死亡 1 只,卡托普利组死亡 1 只,模型组死亡 2 只。

2.2 毛冬青对大鼠心功能的影响 与假手术组比较,模型组的 EF、FS 均明显下降,差异有显著性意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较,卡托普利组及毛冬青低、高剂量组 EF 及 FS 均明显提高,差异有显著性意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 对各组大鼠 EF 与 FS 的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of EF and FS in different groups

组别	n	EF/%	FS/%
假手术组	9	89.66 ± 3.91	63.03 ± 7.39
模型组	7	71.32 ± 5.32*	33.16 ± 4.88**
毛冬青高剂量组	7	85.61 ± 4.39 [△]	48.18 ± 6.31 [△]
毛冬青低剂量组	8	83.13 ± 6.11 [△]	47.37 ± 6.55 [△]
卡托普利组	8	86.38 ± 4.26 [△]	49.84 ± 5.88 [△]

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$ 。

2.3 毛冬青对大鼠 IL-1 β 及 NF- κ B 的影响 与假手术组比较,模型组的 IL-1 β 及 NF- κ B 均明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,毛冬青低、高剂量组及卡托普利组 IL-1 β 、NF- κ B 明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 对各组大鼠 IL-1 β 、NF- κ B 的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of IL-1 β and NF- κ B in different groups

组别	n	IL-1 β /ng·L ⁻¹	NF- κ B/ng·mL ⁻¹
假手术组	9	14.38 ± 2.31	235.16 ± 30.15
模型组	7	41.53 ± 3.85*	470.51 ± 105.39*
毛冬青高剂量组	7	25.24 ± 2.61 [△]	378.53 ± 64.81 [△]
毛冬青低剂量组	8	21.17 ± 2.24 [△]	354.27 ± 56.32 [△]
卡托普利组	8	23.98 ± 2.87 [△]	326.83 ± 85.43 [△]

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$ 。

3 讨论

临床研究^[5]表明,毛冬青甲素对治疗心力衰竭有良好的临床疗效,并有多重抗心衰血流动力学效应和保护心肌作用。动物实验方面通过结扎家兔冠状动脉前降支制作心梗模型,测定毛冬青甲素对心梗后及手术前后炎性细胞因子水平的改变。结果表明,毛冬青甲素能够抑制心梗后的炎症反应,显著降低心梗后 CRP、IL-6 水平^[6]。毛冬青酸能够抑制肝枯否细胞释放 TNF- α ,其机制可能是上调可溶性枯否细胞中的 TOLL 样受体 4(TLR4),而可溶性 TLR4 是 TLR4(识别脂多糖的受体)的剪接异构体,缺少部分跨膜结构和胞内部分,能有效抑制 NF- κ B 活性和 TNF- α 的生成^[7]。由高血压引起充血性心衰的盐敏感大鼠,其心脏组织中 IL-1 β mRNA 的含量较正常增加 6.2 倍^[8],IL-1 β 刺激大鼠心肌细胞 iNOS mRNA、蛋白质 NO 的产生,抑制培养的大鼠心肌细胞的 L 型 Ca 离子电流,从而降低心肌收缩力。采用腹主动脉缩窄法复制 CHF 动物模型^[9],其血清 IL-1 β 的含量较假手术组明显升高($P < 0.01$),说明 IL-1 β 参与了 CHF 的发生、发展过程。经药物干预后,各治疗组大鼠血清中 IL-1 β 的含量均低于模型组($P < 0.01$),说明各治疗组用药能调节机体免疫功能,可通过抑制巨噬细胞释放 TNF- α 、IL-1 β 等炎症介质,达到减轻心肌损伤的作用。研究显示^[10],心力衰竭大鼠肺脏内 NF- κ B 的活化水平明显增高,与细胞因子的浓度变化呈正相关,与相应的大鼠心脏功能(主要比较指标为 $\pm dp/dt_{max}$)呈负相关。大鼠心力衰竭发生过程中存在组织中细胞因子表达增高,且增高的程度与相应组织中 NF- κ B 的活化程度有关。

研究表明,毛冬青可以提高 EF 和 FS($P < 0.05$),

其作用强度与卡托普利相似。毛冬青改善心功能作用机理复杂,本研究验证了毛冬青对慢性心力衰竭炎症相关因子的影响作用,结果显示,经毛冬青干预后大鼠血清 IL-1 β 、NF- κ B 水平明显下降,与模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明中药毛冬青可能是通过改善慢性心力衰竭的炎症状态作用从而改善心功能。

参考文献:

- [1] Barry Greenberg. Acute decompensated heart failure— treatments and Challenges[J]. Circulation Journal, 2012, 76:532–543.
- [2] 廖华,郭小梅. 慢性心力衰竭诊断与治疗新进展[J]. 心血管病学进展, 2011, 32(1): 94–97.
- [3] 张双伟,冼绍祥. 毛冬青在慢性心力衰竭中抗炎作用的临床研究[J]. 广州中医药大学学报, 2012, 29(2): 120–123.
- [4] Cutilella AF, Rudnik M, Iak R. Muscle and nonmuscle cell RNA polymerase activity during the development of myocardial hypertrophy[J]. J Mol Cell Cardiol, 1978, 10: 677–682.
- [5] 丁有钦. 毛冬青甲素治疗慢性充血性心力衰竭的临床观察[J]. 新中医, 1996, 28(10): 40.
- [6] 褚晨宇. 毛冬青甲素对心肌梗塞后缺血心肌保护作用和对细胞因子影响的实验研究[D]. 长春: 吉林大学, 2005.
- [7] 宋媛媛,李媛,张洪泉. 毛冬青抗炎免疫药理作用的研究进展[J]. 安徽医药, 2009, 13(10): 1157–1159.
- [8] Shioi T, Matsumori A, Kihara Y, et al. Increased expression of Interleukin-1 β and monocyte Chemotactic and activating Factor Failing heart with pressure overload[J]. Circ Res, 1997, 81(5): 664–671.
- [9] 张志霞,张一昕,李国川,等. 人参强心滴丸对充血性心力衰竭大鼠血清 TNF- α 和 IL-1 含量的影响[J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(8): 549–551.
- [10] 李彦华,王士雯,朱梅. 心力衰竭大鼠组织中核因子 κ B 的活化与细胞因子的表达[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2009, 10, 8(5): 449–451.

(编辑: 宋威)

DPPH 法测定芒果叶中总黄酮提取物的抗氧化活性

秦媛媛¹, 冯育林^{1,2}, 邵崇钰¹, 张武岗^{1,2}, 黄文平², 杨世林^{1,2} (1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330006; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006)

摘要: 目的 研究芒果叶中不同含量总黄酮提取物的抗氧化活性。方法 采用 DPPH 法测定芒果叶中以芒果苷为指标的不同含量的总黄酮提取物的抗氧化活性。结果 抗氧化活性由大到小依次为: VC > 芒果苷含量为

收稿日期: 2013-11-14

作者简介: 秦媛媛,女,硕士研究生,研究方向: 中药材有效成分提取工艺的研究。Email: 814579681@qq.com。通讯作者: 张武岗,副教授,主要从事天然产物研究工作。Email: zwgch98@foxmail.com。

基金项目: 江西创新药物与高效节能降耗制药设备协同创新中心[赣教高字(2012)89 号]。